



TITLE:

A-3 認知機能と行動制御における外側手綱核の役割

AUTHOR(S):

松本, 正幸; 川合, 隆嗣; 佐藤, 暢哉

CITATION:

松本, 正幸 ...[et al]. A-3 認知機能と行動制御における外側手綱核の役割. 霊長類研究所年報 2014, 44: 80-80

ISSUE DATE:

2014-12-04

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/214238>

RIGHT:

2. 研究成果

(1) 計画研究

A-1 霊長類に特異的なイムノトキシン神経路標的法の開発

小林和人, 加藤成樹, 伊原寛一郎 (福島医大・医) 所内対応者: 高田昌彦

霊長類の高次脳機能の基盤となる脳内メカニズムの解明とゲノム科学との融合のために、複雑な神経回路における情報処理とその調節の機構の理解が必要である。我々は、これまでに、高田教授の研究グループと共同し、高頻度な逆行性遺伝子導入を示すウイルスベクター(HiRet/NeuRet ベクター)を用いて特定の神経路を切除する遺伝子操作技術を開発した。この神経路標的法では、ヒトインターロイキン-2 受容体 α サブユニット(hIL-2R α)遺伝子を発現する NeuRet ベクターを脳に注入することにより、そこへ入力する神経路に hIL-2R α 遺伝子を発現させ、その後特定脳領域に hIL-2R α に対して選択的に作用する組換え体イムノトキシンを投与することによって、目的の神経路の選択的除去を誘導する(Inoue et al., 2012)。しかし、このイムノトキシンはサル IL-2R α に交差反応する可能性があり、標的細胞への選択性を高めるために、サル IL-2R α に反応せず、マウス IL-2R α (mIL-2R α) に選択的に作用する新たなイムノトキシン(anti-mCD25-PE38)の開発を試みた。mIL-2R α を用いて免疫化したラットより調製された 3 種類の抗体(3C7, 2E4, PC61)について、ハイブリドーマから得た遺伝子配列に基づき VH と VL 領域を単一ペプチドとして連結し、緑膿菌体外毒素の膜貫通・触媒ドメインに融合したイムノトキシンを発現するベクターを作製した。これらのイムノトキシンについて大腸菌で発現させ、精製し、イムノトキシンの性能を評価する予定である。また、NeuRet ベクターの遺伝子導入効率を向上させるため、融合糖タンパク質のジャンクションの至適化を行い、新たな融合糖タンパク質 E 型(FuG-E)を開発した(Kato et al., 2014)。今後、FuG-E ベクターについてサル脳内への遺伝子導入頻度を解析する予定である。

A-2 霊長類モデルを用いたトゥーレット症候群に有効な脳深部刺激療法の基礎的研究

磯田昌岐 (関西医科大・医), 松本正幸, Kevin McCairn (筑波大・医) 所内対応者: 高田昌彦

チックとよばれる不随意運動を特徴とするヒトのトゥーレット症候群の発症機構と、それに対する脳深部刺激療法の有効性を検討するため、同疾患の霊長類モデル動物を用いた電気生理学的研究を実施した。まず、ニホンザルの大脳基底核(被殻)に GABA-A 受容体の拮抗薬であるピククリンを微量注入し(2-8 l)、顔面と前肢のチックを誘発した。この症状は、薬剤注入の数分後から出現し、数時間(通常は 2-3 時間)後に消失するという一過性の経過をたどった。次に、チックの出現前後において、大脳皮質運動野、大脳基底核(被殻、淡蒼球外節、淡蒼球内節)、そして小脳(皮質および歯状核)から単一神経細胞活動と局所電場電位を記録し、広域神経ネットワークの活動を評価した。その結果、全ての記録部位において、チックに同期あるいは先行する異常な興奮活動を見出した。大脳基底核における異常活動の潜時は、大脳皮質運動野と小脳のそれよりも有意に早かったが、大脳皮質運動野と小脳間では有意差を認めなかった。さらに、淡蒼球内節に電気刺激(2 相性パルス、各パルス幅 60 μ 秒、周波数 150Hz、刺激強度 1V、持続時間 30 秒)を加えたところ、チックの振幅が減少し、淡蒼球の異常神経活動が减弱した。以上より、トゥーレット症候群は、大脳基底核に加え小脳を含む広汎な神経ネットワークの活動異常により引き起こされること、そして、大脳基底核の出力部の電気刺激がそのような異常活動を除去するのに有効であることが示唆された。

A-3 認知機能と行動制御における外側手綱核の役割

松本正幸 (筑波大・医), 川合隆嗣 (関西学院大・院・文), 佐藤暢哉 (関西学院大・文) 所内対応者: 高田昌彦

外側手綱核と前部帯状皮質は罰に関連した神経シグナルを伝達する脳領域である。本研究では、それぞれのシグナルが脳内の学習プロセスに果たす役割を検討するため、マカクザル(ニホンザルとアカゲザル)を用いた電気生理学的研究を実施した。まず、二頭のサルに逆転学習課題を訓練した。この課題では、サルに二つの選択肢を呈示し、一方を選ぶと 50% の確率で報酬が得られるが、もう一方を選択しても報酬は得られない。報酬が得られる選択肢は数十試行の間固定され、その後、明示的なインストラクション無しに入れ換わる。サルは、一方を選んで報酬が得られない試行が続いたとき、もう一方に選択を切り替える必要がある。課題遂行中のサルの外側手綱核と前部帯状皮質から神経活動を記録したところ、両方の脳領域で報酬が得られなかったときに活動を上昇させる神経細胞が多数見つかった。特に、前部帯状皮質で大きな神経活動の上昇が生じた後、サルが自らの選択を切り替える傾向が見られた。外側手綱核ではサルの選択に関連した神経活動は見られなかったが、前部帯状皮質よりも早いタイミングで神経活動が上昇していた。以上の結果から、まず外側手綱核で無報酬が検出され、その後、前部帯状皮質でサルの選択行動が決定されると示唆される。

A-4 行動制御に関わる高次脳機能の解明に向けた神経ネットワークの解析

星英司, 橋本雅史 (東京都医学総合研究所・前頭葉機能プロジェクト) 所内対応者: 高田昌彦

霊長類の大脳皮質にある複数の高次運動野は認知的な行動制御において、重要な役割を果たす。さらに、こうした機能を達成するにあたって、他の脳部位、特に大脳基底核と小脳とのやり取りが重要であることが示唆されている。そこで、Brodmann 6 野の外側面にある 2 つの高次運動野(運動前野背側部と運動前野腹側部)に注目し、これらが基底核ならびに小脳と形成するネットワーク構築を解明することを目指して本研究を行った。基底核と小脳は視床を介して大脳皮質に投射しているため、シナプスを越えて逆行性に伝播する性質がある狂犬病ウイルスをトレーサーとして用いた。運動前野にウイルスを注入した後の生存期間を調節することによって、淡蒼球内節と小脳核における投射起源、ならびに、線条体と小脳皮質における投射起源を同定することができた。その結果、いずれの部位においても「運動領域」(一次運動

野へ投射する領域)が運動前野腹側部と背側部へ投射するのに対して、「連合領域」(前頭前野へ投射する領域)は運動前野背側部へ選択的に投射することが明らかとなった。この結果は、運動前野背側部を中心とするネットワークが認知情報に基づく行動計画に関与するのに対して、運動前野腹側部を中心とするネットワークは主として計画された行動を正確に実行する過程に関与することを示唆した。

A-5 チンパンジーの口腔内状態の調査：う蝕・歯の摩耗・歯周炎・噛み合わせの評価を中心に

桃井保子，花田信弘，小川匠，野村義明，今井奨，岡本公彰，井川知子，齋藤渉，宮之原真由，菅原豊太郎（鶴見大・歯）
所内対応者：友永雅己

チンパンジー11 個体 342 歯に対して歯科検診を実施した。その内う蝕歯は 16 歯、喪失歯は 3 歯であった。よって、う蝕経験歯を指す DMF 歯は 19 歯、DMF 指数は 1.45 であった。歯肉溝の深さは、342 歯中 317 歯が 4mm 以下であった。歯周ポケット測定時に出血を認めなかったのは 6 個体、動揺歯を認めなかったのは 8 個体であった。著しいプラークの蓄積と歯石の沈着が 9 個体に認められた。また、年齢に応じて全顎的に顕著な咬耗を認めた。

う蝕歯はそのほぼ全てに破折を認めた。そのうち前歯は 11 歯であり、破折・う蝕歯は前歯部に集中している。よって、う蝕の原因は外傷に起因すると考えられる。歯肉溝の深さが 4mm 以下である歯は全体の 92.7%であり、そのほとんどが測定時の出血を認めなかった。深さ 4mm の歯肉溝は健康な歯肉であると推察する。現在までに検診した個体のう蝕と歯周疾患から見る口腔健康状態は、口腔衛生に関する介入は皆無であり、プラークと歯石の多量の沈着を散見するにもかかわらず極めて良好といえることができる。この理由として、本研究所におけるチンパンジーが 100 品目を超える無加工のバランスの良い食餌を取っている事に着目している。いくつかの個体は経年的な検査結果を得ている。

また、採取したプラークから分離された 6 菌株については生化学的性状、遺伝子塩基配列より、*S. mutans* グループに属する新菌株であるとして *Streptococcus troglodytae* と命名し、承認された。さらに未知の細菌が存在する可能性があると考えている。

A-6 霊長類における概日時計と脳高次機能との関連

清水貴美子，深田吉孝，中辻英里香（東大・院・理） 所内対応者：今井啓雄

我々はこれまで、齧歯類を用いて海馬依存性の長期記憶形成効率の概日変動を見出し、SCOP という分子が概日時計と記憶を結びつける鍵因子である可能性を示す結果を得てきた。本研究では、ヒトにより近い脳構造・回路を持つサルを用いて、SCOP を中心とした概日時計と記憶との関係を明らかにする。

ニホンザル 6 頭を用いて記憶測定法の検討を行った。苦い水と普通の水が入った 2 つのボトルにそれぞれ異なる目印をつけ、水の味と目印との連合学習を行う。24 時間後のテストでは普通の水を入れた 2 つのボトルに学習時と同じ目印をつける。どちらのボトルを選ぶかをビデオ観察し、記憶の判断をおこなう。記憶測定の前段階として、水の味と目印が連合する事をサルに覚えさせるための前学習(学習/テストに用いるものとは別の目印)が必要であるが、学習前日に朝昼夕 3 回の前学習では学習効果がみられなかった。1 日 1 回 3 日間の前学習では少なくとも一部のサルには学習効果がみられていたため、このスケジュールをもとに本テストを再検討し、最適な学習プロトコルを作成する。学習プロトコルが決定した後、SCOPshRNA 発現レンチウイルスをもちいた海馬特異的な SCOP の発現抑制により、記憶の時刻依存性に対する SCOP の影響を検討する。

A-7 ゲノムによる霊長類における脳機能の多様性の解明

橋本亮太（大阪大・院・連合小児発達学研究所），安田由華，山森英長（大阪大・院・医学系研究所）

所内対応者：今井啓雄

統合失調症、双極性障害、うつ病などの精神疾患に関連することが知られているリスク遺伝子である COMT(catechol-o-methyltransferase gene)についての検討を行った。COMT は、ドーパミンの代謝酵素であり、COMT には機能的遺伝子多型(Val158Met)があることが知られている。Val 多型は Met 多型と比較してドーパミンを代謝する酵素活性が高いことから、ヒトの前頭葉において Val 多型では Met 多型よりドーパミンが多く代謝され、ドーパミン量が低下することが想定される。そこで、統合失調症において障害されていることが知られている前頭葉課題である WCST を行い、Val 多型を持つと Met 多型を持つものより WCST の成績が低く、さらに、前頭葉機能効率を fMRI にて測定し、Val 多型を持つものではその効率が悪いことが報告された。最後に、遺伝子関連解析により、Val 遺伝子多型は統合失調症のリスクとなることを報告している。すなわち COMT 遺伝子の Val 多型は Met 多型と比較して COMT 酵素活性が高く、その結果、前頭葉のドーパミン量が低下し、前頭葉機能効率が悪くなり、統合失調症のリスクとなるということである。昨年度までに、マカク類において、エクソンシーケンシングを行い、COMT のミスセンス変異を発見した。次に、大規模にこのミスセンス変異をタイピングする必要があるため、タックマン法を用いて、大量タイピング法を確立した。

本年度は、霊長研におけるニホンザル、アカゲザル、カニクイザル、台湾サル、ブタオザル、ボンネットザル、チンパンジーの Pro265Ser 多型のタイピングを行った。その結果、ニホンザルとカニクイザルのみにおいてこの多型が存在することがわかった。また、ヒトには、この多型は存在せず、サルの進化と行動様式の違いに関与している可能性が示唆された。

ヒトにおいても、脳表現型コンソーシアムにおいて多数の脳表現型を測定し、ゲノム多型との関連の検討を行っており、有望な遺伝子については、霊長類における検討を行うストラテジーで進めている。

A-8 チンパンジーの視覚・注意の発達変化に関する比較認知研究

牛谷智一（千葉大・文学部），後藤和宏（相模女子大・人間社会学部） 所内対応者：友永雅己

本研究は、チンパンジーとヒトの視覚処理を比較し、その共通点と相違点から、視覚の進化的要因を解明することを目的としておこなわれた。これら2種の比較から、知覚的体制化に関する相違が明らかになりつつあるが、本研究では、その相違点のうち、特に、弁別・探索課題における部分・全体情報の視覚処理や注意のメカニズムを解明するとともに、発達変化に関する比較を視野に入れた実験系の確立を目指した。

これまでの実験から、画面上の物体といった「まとまり」を単位に賦活するような視覚的注意過程(オブジェクトベースの注意)がチンパンジーにもあることが明らかになったことから、今回は、物体の形状が注意の賦活にどう影響するかを検討した。手がかりと標的を背景の物体が直線的に結ぶ条件と、複雑に数回転回しながら結ぶ条件とを比較し、前者と比較して後者の反応時間が長くなれば、物体への注意の賦活は物体全体に均一ではなく、手がかり位置からの物体内部での距離に従って低くなることが示唆される。しかし結果は、これらの条件間で差はなく、物体全体が均一に賦活されていることを示唆するものであった。ただし、物体の位置が固定されていたことにより、標的の絶対位置の効果が大きく、物体の複雑さの影響が隠蔽された可能性も高い。今後、位置についての操作を加え、物体の形状の影響を精査する予定である。

A-9 チンパンジーにおけるトラックボール式力触覚ディスプレイを用いた比較認知研究

田中由浩, 佐野明人 (名古屋工業大・機能工学) 所内対応者: 友永雅己

本研究では、トラックボール式力触覚ディスプレイを用いてチンパンジーによる力触覚に関する認知実験を行い、比較認知科学の観点から、力触覚の感度特性および運動と感覚受容の相互関係について考察することを目的としている。また、言語による情報伝達を用いないことで、力触覚の感覚の本質的な伝達や評価の方法についても考察したいと考えている。これまでに摩擦力の弁別について学習実験を行い、弁別の可能性を確認してきた。本年度は、これまでの実験結果を用いて触動作の解析などを行った。実験では大きさの異なる2種類の摩擦力を提示したが、操作されたトラックボールの平均速度を求めると、実験に参加した個体すべてにおいて、摩擦力が大きい時に速度が遅くなる傾向にあることがわかった。一方、平均加速度についてはあまり差が見られなかった。今後、弁別に正解した場合など、試行ごとに解析し、触運動の戦略や摩擦力の認知について考察したい。また、装置の摩擦力提示性能を評価するため、牽引式の摩擦力計測装置を開発した。評価の結果、方向や大きさに誤差はあるものの、これまでに使用していた0.5Nおよび8.0Nの摩擦力提示については差異を確認できた。

A-10 チンパンジーにおける質感認知に関する比較認知科学研究

伊村知子 (新潟国際情報大・情報文化) 所内対応者: 友永雅己

これまでの申請者らの研究から、チンパンジーは「鮮度」の異なる食物の画像を見分ける際に、輝度の分布に関する情報を用いることが示唆された。本年度は、輝度分布から得られる情報の1つとして、立体的な形状の知覚について、チンパンジー7個体(平均年齢25.0歳)とヒト9名(平均年齢21.4歳)を対象に検討した。課題は、画面に提示される輝度のグラデーションのついた円36個をランダムに配置したパタン2つと、36個のうち中央の6個のみグラデーションの反転した円(ターゲット)を含むパタン1つの中から、ターゲットを含むパタンを見つけ出し、できるだけ速く正確に触れるというものであった。このとき、ヒトでは光が上から差すように、輝度のグラデーションが垂直方向に変化する方が、水平方向に変化する場合よりもパタンの違いを区別しやすいことが知られている。そこで、輝度のグラデーションを22.5度ずつ16種類の方向に変化させ、ターゲットの検出における輝度グラデーションの方向の効果を検討した。その結果、チンパンジーもヒトも、水平方向よりも垂直方向を中心とした輝度グラデーションにおいて、ターゲットを含むパタンを速く正確に検出できることが明らかになった。

A-11 チンパンジー母乳における生物活性因子と子供の成長との関係性

岡本早苗 (マーストリヒト大・経済学部), Robin M. Bernstein (ジョージワシントン大・人類学部)

所内対応者: 友永雅己

本研究は現段階でも継続中であり、26年度も引き続き、共同利用研究として継続希望が採択された。本研究では2000年から数年に渡り思考言語分野において採取、冷凍保存されていたチンパンジーの母乳サンプルを調べることで、ヒトとチンパンジーにおける代謝および免疫に関係する因子の比較をおこなう。またチンパンジーの授乳期間が長いことから、母乳中の因子と乳児の発達との関係性を調べる。さらに同様に採取された母子の糞尿サンプルもあわせて調べることで、乳児の発達に伴った母子の生理学的変化を総合的に検討する。現段階では、コロラド大学の研究協力者の実験室において、分析担当者の選抜および訓練がおこなわれている。また、母乳サンプル輸出についても、ワシントン条約に基づいたCITES(Convention on International Trade in Endangered Species)手続きのためのチンパンジー3個体各々の書類準備が進められている。今夏以降には、サンプルの輸出をおこない、分析を開始する予定である。

A-12 霊長類脳科学の新しい展開とゲノム科学との融合に向けた神経解剖学的検索

南部篤, 畑中伸彦, 知見聡美 (生理研・生体システム) 所内対応者: 高田昌彦

パーキンソン病をはじめとするヒト大脳基底核疾患の治療法として、大脳基底核に刺激電極を埋め込み高頻度連続電気刺激を行うという脳深部刺激療法(Deep Brain Stimulation, DBS)が行われている。しかし、連続刺激が局所の神経を抑制しているのか、興奮させているのかなど、その作用メカニズムについては不明なことが多い。今回サル(ヒト)の淡蒼球内節を刺激し、局所の神経活動を記録することにより、DBSの作用メカニズムを探る実験を行った。淡蒼球内節の単発刺激では局所の神経活動が一時的に抑制され、高頻度の連続刺激では刺激期間中の神経活動が完全に抑制された。また、この抑制に

は GABA-A 受容体が関わっていることが明らかになった。一方、淡蒼球外節刺激の場合は、抑制とそれに引き続く興奮が観察された。とくに高頻度の連続刺激では、興奮が目立つ傾向にあった。抑制には GABA-A 受容体が、興奮にはグルタミン酸受容体が関わっていることが明らかになった。このように淡蒼球内節と淡蒼球外節とでは、局所刺激した場合の反応が大きく異なることがわかった。このことは、両者において GABA 作動性入力とグルタミン酸作動性入力の比重の違いなど、神経解剖学的な差によると考えられた。また、このように反応が違うことを利用すれば、淡蒼球内節と淡蒼球外節とを容易に区別することが出来るようになり、ヒトの定位脳手術の際、ターゲットの同定に利用できる可能性が示唆された。

A-13 霊長類における時空間的な対象関係の理解に関する比較研究

村井千寿子（玉川大・脳研） 所内対応者：友永雅己

生物と物体の区別は、あらゆる動物において必須の基本的な知識のひとつである。しかし、ヒト以外の動物が生物・物体に関してどのような知識を持つかについては実験的研究が少ない。本研究では、ニホンザル・チンパンジーを対象にこれら対象の運動特性の理解について調べた。実験では、物的な運動として水平運動を、生物的な運動としてシャクトリ虫のような物体の伸縮を伴う運動を設定し、二次元の幾何学図形がそれぞれの運動で移動するアニメーションを作った。物体は他の物体からの接触がある場合のみ運動が起こり、対して、生物は他の物体からの働きかけがなくても自己推進的な運動が可能である。そこで、先の物的・生物の対象がこれらの運動ルールにしたがって移動する自然事象、またはルールに反して移動する違反事象を被験体に提示し、各事象に対する注視反応の違いから、被験体がそれぞれの対象においてその違反性に気づくかどうかを調べた。昨年度までの研究ですでに、チンパンジーにおいてその違反検出の可能性が示唆され、またニホンザルにおいても同様の可能性が示されている。本年度はこの結果を強めるために、ニホンザルにおいてより多数の被験体でのデータ収集を行い、分析を進めている。

A-14 二卵性ふたごチンパンジーの行動発達に関する比較認知発達研究

安藤寿康（慶應義塾大・文）、岸本健（聖心女子大・文）、多々良成紀、福守朗、山田信宏、小西克也（高知県立のいち動物公園） 所内対応者：友永雅己

高知県立のいち動物公園のチンパンジー・コミュニティでは、2009 年に 1 組の二卵性の雌雄の双子が誕生し、母親および母親以外のメンバーによる養育が現在まで継続している。母親以外のメンバーが実子以外の子を世話する様子が、通常のチンパンジー・コミュニティではほとんど見られないことから、われわれはかれらがなぜ、どのように双子を世話するのか、またそうしたかわりの中で双子は社会性をどのように発達させていくのかを検討するために、この双子とその母親、父親、非血縁者(すべて成体のメス) の 9 人をそれぞれ個体追跡法で観察しつづけている。本年度も観察を継続するとともに、得られたデータを解析し、11 月 9 日・10 日にのいち動物公園で開催された SAGA16 において発表した。

データの解析から、母親以外の成体メスの中には、通常、非血縁の子に対して行わないような運搬の世話行動を双子の一方にだけ行う者が複数いることが分かった。また、子の社会的認知能力と運動能力の発達に伴い双子間、ならびに双子と大人間の相互作用も複雑なものに変化していることが観察より見てとれた。双子たちの行動には個体差が明確になってきているが、現時点ではこれが性差に起因するのかどうか不明である。

A-15 成体脳神経新生の in vivo 動態解析技術の創出

植木孝俊、尾内康臣、間賀田泰寛、小川美香子（浜松医科大）、岡戸晴生（東京都医学総合研究所）

所内対応者：高田昌彦

哺乳動物成体脳神経新生の動態、その分子基盤の研究は、これまで専らマウス等のげっ歯類で行われ、ヒト、マカクザル等の高等霊長類での成体脳神経新生の生理的役割、及び、その障害が精神神経疾患の病態生理に与える仕組みは未解明であった。そこで、本研究では、マカクザル(ニホンザル、アカゲザル)成体脳内の神経幹細胞を PET により in vivo で画像化し、その動態と病態脳での神経新生障害を、リアルタイムで定量的に解析することをねらいとした。

ここでは、初めに神経幹細胞をポジットロン放出核種で特異的に標識するため、神経幹細胞選択的に中性アミノ酸トランスポーターと、その共役因子を発現するレンチウイルスによる遺伝子発現系を構築した。即ち、nestin プロモーター/エンハンサーをカニクイザル BAC ライブラリーからクローニングし、それにより P2A 配列を介したトランスポーター並びに共役因子遺伝子を発現するウィルスベクターから、ウィルス粒子を調製した。次に、ヒト神経幹細胞株にウィルスを感染し、nestin プロモーター/エンハンサーの神経幹細胞特異的活性を確認するとともに、成獣ラット海馬へのウィルス感染により、in vivo で神経幹細胞特異的な EGFP 発現を誘導した。

(2) 一般個人研究

B-1 マカクザルにおける出産様式に関する形態学的研究

森本直記（京都大・理）、Christoph Zollikofer, Marcia Ponce de León（スイス・チューリッヒ大・人類）

所内対応者：西村剛

ヒトにおける出産様式の進化に関する研究は、脳機能・歩行様式・生活史に関わる多面的な課題である。しかし、出産進化のメカニズムにおいて鍵となる新生児と骨盤の化石記録が乏しく、直接的な検証が極めて困難である。そのため、現生の霊長類をモデルとした研究が不可欠である。本共同研究では、マカク(アカゲザル)をモデルとし、出産メカニズムに関する生体データを取得・解析することを目的とした。2013 年度は、妊娠・出産期の母親 5 個体(胎児 5 個体)を CT 撮像し、母親と胎児の 3 次元データを取得した。時間的制約等により、当初目標としていた母子 10 組のデータを期間内に